

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00469

驻极体利多卡因贴剂的透皮促渗作用

孔玉秀¹,程亮²,肖永恒¹,王冬¹,江键²,崔黎丽^{1*}

1. 第二军医大学药学院无机化学教研室,上海 200433

2. 第二军医大学基础部数学教研室,上海 200433

[摘要] **目的:**研究驻极体对利多卡因透皮吸收的促渗作用。**方法:**利用 Franz 扩散池和高效液相色谱法测定利多卡因贴剂、含不同浓度氮酮利多卡因贴剂、正/负极性驻极体利多卡因贴剂和含不同浓度氮酮的正/负极性驻极体利多卡因贴剂在 10 h 内的体外大鼠皮肤累积渗透量,研究驻极体对利多卡因的透皮促渗作用。**结果:**(1)含 1%、3% 和 5% 氮酮的利多卡因贴剂的 10 h 药物累积渗透量分别是利多卡因贴剂的 1.06、1.10、1.66 倍(5% 氮酮组有统计学差异, $P < 0.05$)。(2)含 1%、3% 和 5% 氮酮的负极性驻极体利多卡因贴剂与相应的含化学促渗剂利多卡因贴剂具有类似的促渗效果。(3)含 1%、3% 和 5% 氮酮的正极性驻极体利多卡因贴剂与相应的化学促渗剂利多卡因贴剂相比,具有更大的增渗倍数($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),且 5% 氮酮与正极性驻极体对利多卡因的透皮吸收有联合促渗作用。**结论:**正极性驻极体对利多卡因贴剂有更好的促渗效果,氮酮与正极性驻极体对利多卡因透皮吸收有联合促渗作用,并与氮酮的浓度有关。

[关键词] 驻极体;利多卡因;皮肤给药;增渗倍数;氮酮

[中图分类号] R 943.43 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)05-0469-04

Enhancing effects of electret on transdermal delivery of lidocaine patches *in vitro*

KONG Yu-xiu¹, CHENG Liang², XIAO Yong-heng¹, WANG Dong¹, JIANG Jian², CUI Li-li^{1*}

1. Department of Inorganic Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Department of Physics and Mathematics, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433

[ABSTRACT] **Objective:** To study the enhancing effects of electret on transdermal delivery of lidocaine patches *in vitro*. **Methods:** *In vitro* rat skin permeation experiment was carried out with lidocaine patches, lidocaine patches with azone, positive/negative electret lidocaine patches, and positive/negative electret lidocaine patches with azone by using Franz diffusion cells. The accumulated lidocaine concentrations in rat skin treated with each kind of patches were examined by HPLC to investigate the influence of electret on transdermal delivery of lidocaine. **Results:** (1) The enhancement rates of 1%, 3% and 5% azone lidocaine patches 10 h after application were 1.06, 1.10 and 1.66 folds ($P < 0.05$, 5% azone vs lidocaine patch group) that of the lidocaine patch, respectively. (2) Lidocaine patches with negative electret containing 1%, 3% and 5% azone showed similar transdermal behavior to the corresponding chemical enhancer patches. (3) Lidocaine patches with positive electret containing 1%, 3% and 5% azone showed much better enhancing effect than the corresponding chemical enhancer lidocaine patches ($P < 0.05$). Besides, 5% azone together with positive electret showed a cooperative enhancing effect. **Conclusion:** Positive electret patch has better effect in enhancing transdermal delivery of lidocaine. Besides, the cooperative enhancing effect of azone with positive electret on transdermal delivery of lidocaine is in a concentration-dependent manner with azone.

[KEY WORDS] electret; lidocaine; cutaneous administration; enhancement ratio; azone

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(5): 469-472]

透皮给药系统是指药物从特殊设计的装置释放,透过完整的皮肤,进入全身血液系统的控制释放

剂型,可以保持血药浓度稳定在治疗有效浓度范围,提高药物预见性和用药的安全性^[1],改善患者的顺

[收稿日期] 2008-10-08 **[接受日期]** 2009-02-10

[基金项目] 国家自然科学基金(50577066);军队“十一五”国际合作项目(06H022). Supported by National Natural Science Foundation of China(50577066) and International Cooperation Project of “11th Five-Year Plan” of PLA(06H022).

[作者简介] 孔玉秀,硕士生. E-mail: xiuxiu_777@163.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-81871218, E-mail: cuilili39@hotmail.com

应性。皮肤的屏障作用和药物的物理化学性质,对于亲水性药物、离子性药物、大分子药物的经皮吸收有一定限制。新的促渗方法已成为研究热点之一,包括:(1)物理方法(离子导入和电穿孔技术等);(2)化学方法(用氮酮等各类化学促渗剂);(3)药剂学方法(如微乳、脂质体、纳米粒、前药的应用)^[2-4]。其中,化学方法是迄今研究最多和应用最广的经皮渗透促进方法。常用的化学促渗剂有氮酮、SEPA(2-*n*-壬基-1,3-二 烷)、萘类、脂肪酸及脂类等,其促渗的基本机制是通过可逆地改变角质层结构或通过增加药物在皮肤中的溶解度来促进药物的吸收^[5]。

驻极体是一类能够长期储存空间电荷和(或)偶极电荷的功能电介质材料^[6],利用驻极体的静电效应和微电流能改变皮肤角质层内的脂质双层排列方式,形成大量暂时的、可渗透的新孔道^[7]。因此,驻极体有望作为新型的物理促渗方法应用于药物的经皮吸收。

本实验基于利多卡因饱和溶液的处方前研究为基础^[8],以利多卡因为模型药物、聚丙烯膜为驻极体材料,制备驻极体利多卡因贴剂,通过比较研究驻极体利多卡因贴剂与化学促渗剂氮酮促进利多卡因经皮吸收的规律,为进一步阐明驻极体促渗机制和开发驻极体贴剂奠定实验基础。

1 材料和方法

1.1 仪器和试剂、动物 RYJ-6B型药物透皮扩散试验仪(上海黄海药检仪器有限公司);FA1004型电子天平(上海天平仪器厂);Cary100紫外分光光度计(美国 Varian 公司);栅控电晕充电系统(大连理工大学静电与特种电研究所);SD803表面电位计(机械电子部上海电动工具厂);Agilent-1100高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司)。

利多卡因原料药(杭州浙大泛科化工有限公司);柠檬酸丁酯(上海化学试剂公司,纯度 $\geq 99.0\%$);Eudragit E100(德国 Röhm 公司赠送);氮酮(福建寿宁美菲思生物化学制品厂,纯度 $\geq 99.0\%$);甲醇,色谱纯(德国默克公司);醋酸,优级纯;三乙胺和无水乙醇,分析纯(国药集团化学试剂上海有限公司)。

雄性 SD 大鼠,体质量 200~250 g,购自第二军医大学实验动物中心。

1.2 驻极体材料 聚丙烯膜(polypropylene, PP),东丽株式会社(Toray Industries Inc., 日本)生产的

商品膜,膜厚 13 μm 。

1.3 贴剂的制备 (1)将 0.275 g Eudragit E100 用无水乙醇溶解后放置过夜。(2)加入 0.110 g 柠檬酸丁酯,待溶解后,混合均匀,得到无色透明黏稠溶液(空白贴剂组);利多卡因贴剂组(对照组 A);边搅拌边加入利多卡因 0.065 g,混合均匀;含化学促渗剂的利多卡因贴剂组(对照组 B);分别加入 1%、3%、5%氮酮和利多卡因,制得 3 种不同的液体。(3)将上述所得液体铺于 5.5 cm \times 7.5 cm PP 膜上,自然干燥 12 h,覆盖防粘层,即得到相应贴剂。

对利多卡因贴剂和含不同浓度氮酮的利多卡因贴剂实施常温恒压电晕充电,电晕电压 ± 20 kV,栅压 $\pm 1\ 000$ V,制得正/负极性驻极体利多卡因贴剂和含不同浓度氮酮的正/负极性驻极体利多卡因贴剂。

1.4 贴剂的体外透皮特性考察

1.4.1 鼠皮的处理 将健康的雄性 SD 大鼠用 20%氯化坦麻醉,电动剃毛刀剃去腹部鼠毛,立即剥离皮肤,处死。用脱脂棉去除皮下脂肪组织及粘连物,用生理盐水反复冲洗干净,将鼠皮平铺于 2 层滤纸中,用铝箔包好,存放于 -25°C 冰箱中待用。

1.4.2 检测波长的选择 将利多卡因原料药溶于 PBS(pH=7.4),在 200~500 nm 波长范围内进行紫外扫描。将鼠皮及空白贴剂分别在 PBS 中浸泡 12 h,经 0.45 μm 孔径的微孔滤膜过滤,滤液在同样波长范围内进行紫外扫描。

1.4.3 色谱条件 色谱柱:Diamondsil C₁₈,250 mm \times 4.6 mm,5 μm ;流动相:甲醇-水-醋酸-三乙胺(49.25 : 50 : 0.5 : 0.25);流速:1.0 ml/min;检测波长:261 nm;柱温:35 $^\circ\text{C}$;灵敏度:0.01 AUFS;进样量:10 μl 。

1.4.4 标准曲线的建立 精密称取利多卡因,溶于 pH=7.4 的 PBS 中,定容至 100 ml,得利多卡因储备液。精密量取利多卡因储备液 0.025、0.05、0.1、0.2、0.3、0.6 和 1.2 ml,置于 10 ml 容量瓶中,加 PBS(pH=7.4)稀释至刻度,摇匀,得浓度为 2.5~120 $\mu\text{g/ml}$ 的利多卡因标准溶液。每个标准溶液重复测量 3 次,以峰面积 A 对利多卡因浓度 C 进行回归,得标准曲线方程。

1.4.5 回收率的测定 配制高、中、低 3 种浓度的利多卡因溶液,按 1.4.3 项下条件测定峰面积 A,代入上述标准曲线方程,计算方法回收率。

1.4.6 各组贴剂体外累积渗透量测定 将上述各

组贴剂粘贴在大鼠皮肤的角质层上,皮肤贴于 Franz 扩散池的接受池,接受液为 PBS(pH=7.4),水浴温度(32±0.5)℃,磁力搅拌速度为 320 r/min。在 1、2、4、6、8 和 10 h 取样,每次取样 4 ml,并补充等量的接受介质,按 1.4.3 项下条件测定峰面积 A 。

利多卡因的体外累积渗透量(Q)可根据下面的公式计算:

$$C_{\text{correct}} = C_n + V_0/V \sum_{i=n-1}^{i=1} C_i$$

$$Q = C_{\text{correct}} \times V/A$$

式中 V 为接受室容积, V_0 为取样体积, C 为供给室利多卡因浓度, C_n 为第 n 点的实测浓度, C_{correct} 为第 n 点的校正浓度, $\sum C_i$ 为该取样点前所有测定浓度之和, A 为有效扩散面积。

1.5 统计学处理 组间比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 检测波长的选择 图 1 显示,利多卡因在 210 nm 和 261 nm 处有 2 个吸收峰,鼠皮溶出物在 210 nm 处也有最大吸收。空白贴剂在 261 nm 处无干扰,且鼠皮溶出物含量较小,故选择 261 nm 为利多卡因含量的测定波长。

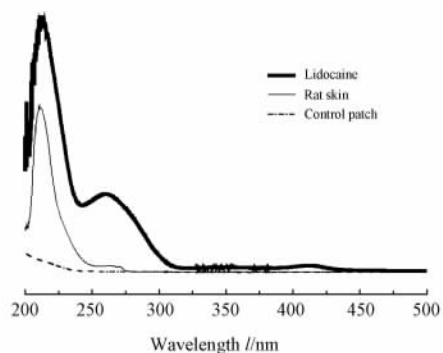


图 1 利多卡因、空白贴剂和鼠皮溶出物的紫外扫描图
Fig 1 Ultraviolet images of lidocaine, control patch and rat skin in PBS(pH=7.4)

2.2 标准曲线方程 以峰面积 A 值对浓度 C 进行线性回归,得标准曲线方程: $A = 0.82364C + 0.11559$, $r = 0.9999$,可见在 2.5~120 $\mu\text{g/ml}$ 内两者具有良好的线性关系。

2.3 方法回收率 利多卡因方法回收率为 97%~106%,符合方法学要求。

2.4 利多卡因体外透皮吸收的影响

2.4.1 化学促渗剂对透皮吸收的影响 当含 1%、3%、5%氮酮的利多卡因贴剂作用于离体鼠皮 10 h,

其累积透过量分别为 216.36、224.00 和 338.41 $\mu\text{g/cm}^2$,分别是对照组 A (204.27 $\mu\text{g/cm}^2$) 的 1.06 倍、1.10 倍和 1.66 倍(5%氮酮组有统计学差异, $P < 0.05$)。结果显示,含氮酮的利多卡因贴剂对利多卡因的促渗作用随着氮酮浓度的增加而增强(图 2)。

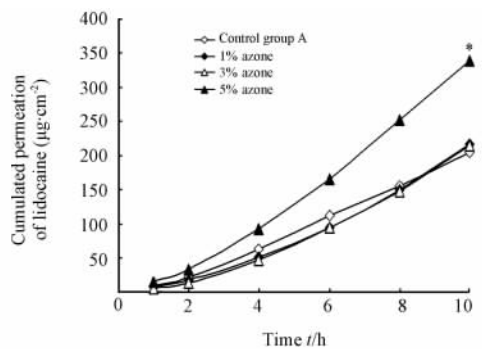


图 2 不同浓度氮酮对利多卡因经皮吸收的影响
Fig 2 Effect of azone on transdermal delivery of Lidocaine through rat skin

* $P < 0.05$ vs control group A

2.4.2 负性驻极体对透皮吸收的影响 负性驻极体利多卡因贴剂作用于离体鼠皮 10 h 内的体外累积透过量,无促渗剂组、1%氮酮组、3%氮酮组、5%氮酮组是对照组 A 增渗倍数的 0.96、0.83、1.05 和 1.51 倍(5%氮酮组有统计学差异, $P < 0.05$);是含化学促渗剂利多卡因(对照组 B)的相应增渗倍数的 0.78、0.96 和 0.91 倍。结果表明含 5%氮酮负性驻极体利多卡因贴剂有良好的促渗效果。但是,含化学促渗剂负性驻极体贴剂与化学促渗剂贴剂统计分析无差异,即为负性驻极体与化学促渗剂氮酮对利多卡因透皮吸收无显著联合促渗作用。

2.4.3 正性驻极体对透皮吸收的影响 含化学促渗剂的正性驻极体利多卡因贴剂作用于离体鼠皮,其利多卡因累积透过量与作用时间的关系如图 3 所示。结果显示,各组利多卡因的累积透皮量随作用时间的增加呈线性上升趋势,且含 5%氮酮的正性驻极体利多卡因贴剂的促渗效果最佳。当含不同浓度氮酮的正性驻极体利多卡因贴剂作用于离体皮肤 10 h,其利多卡因累积透过量分别是含相应浓度氮酮利多卡因(对照组 B)增渗倍数的 1.31、1.15、1.77 倍($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);是对照组 A 增渗倍数的 1.39、1.26 和 2.93 倍(5%氮酮组有统计学差异, $P < 0.05$)。正性驻极体无促渗剂组是对照组 A 增渗倍数的 1.81 倍($P < 0.05$)。结果表明,正性驻极体比化学促渗剂对利多卡因贴剂有更好的促

渗作用,并且正极性驻极体与化学促渗剂对利多卡因贴剂有很好的联合促渗作用。

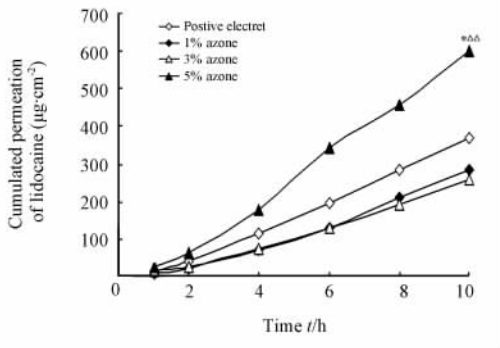


图3 含不同浓度氮酮的正极性驻极体对利多卡因贴剂经皮吸收的影响

Fig 3 Effect of positive electret with azone on transdermal delivery of lidocaine through rat skin

* $P < 0.05$ vs positive electret group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs 1% azone and 3% azone groups

3 讨论

氮酮对于亲水性和亲脂性药物均具有良好的促透效果。氮酮的促透效果呈强的浓度依赖性,也受到药物性质的影响。本研究中,5%氮酮效果对利多卡因的促渗效果最好。这是因为一方面氮酮降低细胞间脂质排列有序性,增加流动性和皮肤的通透性;另一方面,氮酮能与角质层细胞间隙脂质相互作用,并脱去脂质形成孔道,降低药物的扩散阻力;此外,氮酮能增加角质层的含水量,使角质层膨松胀大,细胞间隙扩大,药物在角质层和基质间的分配系数增大,有利于药物在角质层形成贮库^[1]。因此,氮酮有利于增加亲水性药物利多卡因的透皮吸收。

正极性驻极体对利多卡因的促渗作用优于选用的不同浓度的氮酮利多卡因贴剂。这是因为一方面驻极体是能够长期提供静电场和微电流的生物电介质材料,驻极体产生的静电场和微电流可导致角质层结构改变和皮肤附属器毛囊口的拓宽,产生大量新孔道,并且使孔道持续开放,从而促进药物的渗透;另一方面,驻极体促渗作用也与药物的性质有关。由于盐酸利多卡因常以正离子的形式分布在压敏胶中,正极性驻极体产生的静电场对正离子的排斥作用增加了利多卡因的定向迁移速率,促进了利多卡因的经皮渗透^[7]。类似的结果被负极性驻极体利多卡因贴剂的研究数据进一步证实。虽然负极性驻极体也能降低皮肤角质层细胞间脂质的排列有序

性,增加流动性,有利于药物的经皮通透,但负极性驻极体产生的静电场对利多卡因的静电吸引作用,制约了药物的经皮渗透,使负极性驻极体贴剂对利多卡因的经皮渗透量明显低于对应的正极性驻极体贴剂。

此外,正极性驻极体与5%氮酮显示出良好的联合促渗作用,这是因为在正极性驻极体和化学促渗剂氮酮的共同作用下,不仅皮肤角质层结构的改变作用增强,而且静电场和微电流加速了正离子型利多卡因的经皮渗透速率,多效应的联合作用增加了利多卡因的经皮渗透量,显示了良好的协同作用。

本实验制备的驻极体利多卡因贴剂,显示出了较好的药物经皮吸收促进作用,但是对药物的促渗程度与前期的处方前研究^[8]相比略有差异,这主要是因为:(1)前期研究中使用的是利多卡因饱和溶液,而贴剂中药物经由介质扩散至皮肤表面的有效浓度小于饱和溶液;(2)相同表面电位的驻极体,到皮肤表面的有效电位,贴剂低于溶液,导致了渗透量的略微减少(皮肤微观结构的改变与有效电位的大小成正相关);(3)静电场对药物及基质的介电性质的影响,一定程度上也会影响到药物通过基质到皮肤的渗透量。进一步的研究正在进行中。

[参考文献]

- [1] 郑俊民. 经皮给药新剂型[M]. 北京:人民卫生出版社,2006:3.
- [2] Burgess S E,Zhao Y L,Sen A,Hui S E. Resealing of electroporation of porcine epidermis using phospholipids and poloxamers[J]. Int J Pharm,2007,336:269-275.
- [3] Merino V,Micó-Albinana T,Nácher A,Diez-Sales O,Herráez M,Merino-Sanjuán M. Enhancement of nortriptyline penetration through human epidermis: influence of chemical enhancers and iontophoresis[J]. J Pharm Pharmacol,2008,60:415-420.
- [4] Qiu Y Q,Gao Y H,Hu K J,Li F. Enhancement of skin permeation of docetaxek; a novel approach combining microneedle and elastic liposomes[J]. J Contr Rel,2008,129:144-150.
- [5] Walters K A. Dermatological and transdermal formulations [M]. New York:Marcel Dekker,2002:273-292.
- [6] 夏钟福. 驻极体[M]. 北京:科学出版社,2001:2-7.
- [7] 崔黎丽,江 键,张 利,宋诚荣,赵卫权,林锦明. 驻极体促进水杨酸甲酯的体外透皮释药[J]. 第二军医大学学报,2001,22:415-417.
- [8] Cui L L,Jiang J,Zhang L,Song C R,Zhao W Q,Lin J M. Enhancing effect of electrets on transdermal delivery of methyl salicylate *in vitro*[J]. Acad J Sec Mil Med Univ,2001,22:415-417.
- [8] 江 键,崔黎丽,程 亮,孔玉秀,董法杰,邢 萱,等. 驻极体与氮酮促进利多卡因透皮吸收的比较研究[J]. 功能材料,2007,38(A05):1698-1701.